Université de Lausanne - Faculté de Médecine

Institut d'Hygiène et de Bactériologie

Directeur : Professeur Hauduroy

Contribution à l'étude du diagnostic pratique de la tuberculose au moyen de l'inoculation au cobaye

THÈSE

présentée à la Faculté de Médecine
de l'Université de Lausanne pour l'obtention du grade de
docteur en médecine

par

JEAN WALKER

Médecin diplômé de la Confédération suisse

Originaire de Sion

Lausanne

Imprimerie Vaudoise

1960

Contribution à l'étude du diagnostic pratique de la tuberculose au moyen de l'inoculation au cobaye

Université de Lausanne - Faculté de Médecine

Institut d'Hygiène et de Bactériologie

Directeur : Professeur Hauduroy

Contribution à l'étude du diagnostic pratique de la tuberculose au moyen de l'inoculation au cobaye

THÈSE

présentée à la Faculté de Médecine
de l'Université de Lausanne pour l'obtention du grade de
docteur en médecine

par

JEAN WALKER

Médecin diplômé de la Confédération suisse
Originaire de Sion

IMPRIMATUR

Le Conseil de la Faculté de médecine de l'Université de Lausanne, après avoir pris connaissance des rapports favorables de MM. les professeurs Paul Hauduroy et Jean-Louis Nicod et sans se prononcer sur les opinions du candidat, autorise l'impression de la thèse intitulée : « Contribution à l'étude du diagnostic pratique de la tuberculose au moyen de l'inoculation au cobaye », présentée par M. Jean Walker pour l'obtention du grade de docteur en médecine.

Lausanne, le 7 avril 1960.

Le Doyen :
Professeur E.-B. STREIFF.

AVANT-PROPOS

Nul n'ignore l'importance primordiale que revêt la recherche du bacille de Koch dans les produits pathologiques, que l'on se place au point de vue diagnostic ou thérapeutique. Parfois, seule et par elle-même, la réponse d'un laboratoire imposera au praticien une décision importante pour son malade ou l'entourage de ce dernier. Comme la plupart du temps cette recherche oblige à recourir à l'inoculation à l'animal, la réponse se fera attendre plusieurs semaines ; après ce laps de temps, la décision à prendre devient parfois urgente et le médecin traitant conformera sa ligne de conduite d'après le résultat d'un seul examen.

Cependant, en dehors de toute erreur possible et humaine, il nous avait semblé qu'une méthode basée sur les réactions d'un organisme vivant devait comporter une certaine relativité dans ses résultats ; relativité liée, d'une part à la qualité et surtout à la quantité de bacilles inoculés, d'autre part à la personnalité, pour autant que nous puissions nous exprimer ainsi, physiopathologique de l'animal inoculé.

En effet : lorsque nous inoculons un cobaye au moyen de produits pathologiques, nous ignorons dans quel état de vitalité se trouvent les bacilles à l'instant de l'inoculation ; précisons qu'il n'est ici aucunement question de leur virulence mais de leur pouvoir de multiplication. Il est probable que ces bacilles, au cours de leurs générations dans l'organisme, retrouveront leurs qualités primitives. Reste à savoir si ce sera le cas au moment où il est nécessaire que le processus morbide se développe comme il le fait habituellement.

Plus importante est la question de la quantité des bacilles inoculés. On peut dire, d'une manière générale, qu'ils sont plutôt peu nombreux, ce qui nous rapproche singulièrement des conditions des infections pauci-bacillaires. En effet, généralement, nous pratiquons des inoculations alors que l'examen direct et même l'enrichissement par homogénéisation n'ont pas permis de mettre en évidence des bacilles acido-alcoolo-résistants. Or, beaucoup d'auteurs, en particulier *Paraff, Boquet* et *Valtis* insistent sur l'importance du nombre des bacilles inoculés.

Selon *Paraff*, à la dose de 1/1 000 000 à 1/10 000 000 de milligramme de bacilles de Koch, ce qui représente environ 40 à 50 bacilles, l'évolution de la maladie est très lente et, durant de nombreux mois, l'animal ne fait aucun phénomène local ou général indiquant l'invasion de son organisme. Cependant, si l'on sacrifie ces animaux à divers stades, on peut constater la présence de minimes lésions au niveau de la rate et des ganglions correspondant au point d'inoculation. Ce n'est qu'au bout de dix mois à une année que l'animal commence à maigrir et à se cachectiser. Même alors les lésions sont difficiles à déceler à l'autopsie et doivent être recherchées avec le plus grand soin. Ces lésions de tuberculose pauci-bacillaire sont caractérisées par l'absence d'adénopathie inguinale ou présacrée. D'après *Paraff*, les lésions principales seraient pulmonaires, parfois il y aurait des granulations spléniques très discrètes. D'autre part, la maladie ne ferait pas de bacillémie, en tout cas différents auteurs n'ont pas pu mettre de bacilles en évidence dans le sang. L'invasion de l'organisme procéderait donc par voie lymphatique ou, plus probablement, par contage de voisinage. Selon *Paraff*, il semblerait que le processus pathologique prenne le caractère de chronicité et d'extension graduelle de la phtisie. Ceci, évidemment, pose un certain problème de pathogénéité, problème du plus grand intérêt mais qui sort du cadre de notre travail.

La question de la sensibilité différente des animaux est beaucoup plus délicate et présente, peut-être, moins d'importance au point de vue pratique. Depuis les premières tuberculoses expérimentales faites par *Villemin*, les auteurs ont beaucoup insisté sur l'extrême sensibilité du cobaye à l'égard du bacille de Koch et *Saenz* et *Valtis* ont calculé qu'un cobaye sur quatre répond à l'injection de deux bacilles de Koch vivants. Cependant, dans cette hypersensibilité, il peut certainement y avoir des nuances d'un individu à l'autre. Il est bien entendu qu'un cobaye réagira toujours à l'inoculation de bacilles tuberculeux mais il peut le faire plus ou moins rapidement avec des symptômes plus ou moins violents. Or, dans un laboratoire d'analyse, on sacrifie les animaux après une période arbitraire et toujours la même ; deux animaux inoculés en même temps et dans les mêmes conditions ne doivent donc pas donner nécessairement des signes anatomo-cliniques au même stade.

Ces considérations nous permettent donc de dire qu'il peut exister des cas où l'examen habituel ne permet pas de mettre en évidence des bacilles de Koch, bien que le produit pathologique soumis à l'examen en ait contenu. C'est ce que nous allons démontrer dans ce travail.

INOCULATION SELON LA TECHNIQUE HABITUELLE

La technique que nous allons décrire est l'examen de routine ordinairement utilisé au laboratoire d'analyse de l'Institut de bactériologie de l'Université de Lausanne : technique universellement adoptée dans les laboratoires où des centaines d'inoculations doivent être faites mensuellement. A titre d'exemple, il a été fait à Lausanne :

— en 1954 : 2921 inoculations ;

— en 1955 : 3245 inoculations.

L'inoculation est pratiquée lorsqu'un produit pathologique n'a pas présenté de bacilles acido-alcoolo-résistants à l'examen direct ou à l'homogénéisation. La manière de procéder est la suivante : on injecte 1 à 2 centimètres cubes de matériel n'ayant subi aucun traitement sous la peau de la cuisse droite du cobaye. Pour éviter les infections à germes banaux, simultanément, on injecte sous la peau de la cuisse gauche 1 centimètre cube de « Gantrisin Roche » en solution aqueuse saturée. Pour permettre l'injection de produits épais, telles les expectorations, on fait généralement usage d'aiguilles de gros diamètre. Si tout va bien et si l'animal n'est pas emporté par une maladie intercurrente, il est sacrifié entre la 7^{e} et la 8^{e} semaine après l'inoculation et on en pratique l'autopsie.

Au cours de cette dernière, on recherche particulièrement les adénites inguinales droites et les adénites présacrées ; en l'absence de ces lésions, on examine la rate et éventuellement, si les autopsies du jour ne sont pas trop nombreuses, les poumons. Si l'on trouve de telles adénites, celles-ci sont ouvertes au bistouri et s'il s'en écoule du pus ou du matériel nécrotique on en fait un étalement sur lame. Ces frottis, fixés à la chaleur, sont colorés au Ziehl et on y recherche les bacilles acido-alcoolo-résistants. Si on en trouve, le cobaye est déclaré positif et le matériel inoculé est considéré comme renfermant des bacilles de Koch pathogènes. Dans le cas contraire ou si l'on n'a pas trouvé d'importantes lésions macroscopiques, le cobaye et, subséquemment, le matériel sont déclarés négatifs, ce qui revient à dire que le matériel est censé ne pas contenir de bacilles tuberculeux.

Ici, une remarque s'impose :

Tout d'abord on inocule un produit qui s'est montré négatif à l'examen direct et à l'homogénéisation. Donc, ce produit ne contient, en principe, que *très peu de bacilles,* s'il en contient. On peut donc l'assimiler à une inoculation pauci-bacillaire.

Le temps laissé à l'extension de la maladie expérimentale est très court *pour une infection pauci-bacillaire.* Il faudrait des mois, ce qui n'est pas possible.

Boquet et *Valtis* signalent, en effet, que lors de ces inoculations la maladie ne procède pas par bacillémie mais par contage de voisinage et, postérieurement, par fusion des foyers, stade que nous n'atteignons vraisemblablement pas. Nous aurons donc de toutes petites lésions presque microscopiques, très difficiles à déceler par une personne non avertie et, dans tous les cas, impossibles à diagnostiquer par un examen de routine. En effet, de telles lésions anatomo-pathologiques ne permettent pas de prélever du matériel pour en faire un frottis.

Ayant eu l'occasion d'assister à quelques séances d'autopsies, nous avions remarqué que certains animaux, assez peu nombreux il est vrai, présentaient quelques petites anomalies. Il s'agissait bien souvent d'un piqueté splénique très discret, d'autres fois c'était un ganglion iliaque ou de la chaîne présacrée légèrement hypertrophié. A la vue de ces lésions, nous nous sommes demandé si un examen histologique ne permettrait pas de mettre en évidence, d'une manière indiscutable, des lésions tuberculeuses.

RECHERCHES AU MOYEN DE L'EXAMEN HISTOLOGIQUE

Grâce à l'amabilité du Dr *Rosset,* chef du laboratoire d'analyses, qui a bien voulu mettre le matériel nécessaire à notre disposition durant quelques mois, nous avons pratiqué nous-même les inoculations et les autopsies des cobayes.

L'emploi d'aiguilles de gros diamètre causant des délabrements dans la peau des animaux, nous avons fait usage d'aiguilles plus fines (N° 1) et pour pouvoir, dans ces conditions, injecter des produits épais, nous les avons placés durant quelques minutes sur un agitateur électrique.

Les animaux ont été sacrifiés après la 7e semaine et, dans la plupart des cas, nous avons effectué nous-même l'autopsie. Pour notre recherche particulière, deux cas pouvaient se présenter :

a) Cobayes positifs, c'est-à-dire présentant de grosses lésions directement diagnosticables.

b) Cobayes apparemment négatifs, c'est-à-dire ayant des lésions invisibles macroscopiquement ou très peu visibles, non directement diagnosticables.

Du point de vue technique, nous avons procédé de la manière suivante : les fragments d'organes ou, suivant leur volume, les organes

entiers, rate, foie, reins, poumons, ganglions, étaient immédiatement mis à fixer dans le mélange de Bouin fraîchement préparé. Après 12 heures, le mélange fixateur était changé et, après 36 heures, les organes étaient placés pour 12 heures dans de l'alcool à 70 %.

Il était ensuite procédé à la déshydratation puis à l'inclusion à la paraffine selon le schéma suivant :

Alcool à 100 %	I	2	heures
» »	II	2	»
» »	III	4	»
Toluol	I	2	heures
»	II	2	»
»	III	12	»
Paraffine	I	2	heures (à 58°)
»	II	2	» »
»	III	4	» »

Les coupes étaient colorées, pour une part, à l'hémalun-érythrosine-safran de Masson et, pour une autre part, au Ziehl modifié de la façon suivante :

Fuchsine phéniquée (à chaud)	20 minutes
Chlorhydrate d'aniline à 6 % (décoloration)	3 »
Alcool à 95 % (décoloration)	7 »
Bleu de méthylène	3 »

Cette méthode est parfaitement applicable si l'on prend la précaution de coller les coupes à *l'eau* sur des lames parfaitement dégraissées.

Description des lésions tuberculeuses du cobaye

En règle générale, si l'animal a été correctement inoculé avec des bacilles de Koch et qu'il a normalement répondu à cette inoculation, les lésions macroscopiques sont les suivantes (cobaye à grosses lésions, voir lettre a) plus haut).

Système lymphatique. — Au point d'inoculation, c'est-à-dire dans la région inguinale droite, nous trouvons un ou plusieurs ganglions plus ou moins hypertrophiés ; leur volume va de celui d'une lentille à celui d'une fève et le centre en est généralement nécrosé ou purulent. Dans la presque totalité des cas, nous trouvons également une adénite, moins volumineuse, appartenant à la chaîne présacrée.

Pour ce qui est des autres localisations, décrites par la plupart des auteurs, soit de la région des aisselles, rétro-xyphoïdienne, inter-trachéo-bronchique, elles sont extrêmement rares et, pour notre part, nous avons trouvé une ou deux fois seulement des adénites inter-trachéo-bronchiques et jamais rétro-xyphoïdiennes. De même, nous

n'avons jamais trouvé la lésion d'inoculation appelée « chancre d'inoculation », ceci probablement parce que les bacilles inoculés dans un but d'analyse sont trop peu nombreux.

Situs abdominal. — A l'ouverture de l'abdomen, la première chose qui frappe l'observateur est une assez forte splénomégalie et hépatomégalie ; ces organes, outre leur hypertrophie qui peut parfois être considérable, présentent, faisant saillie à leur surface, des nodules d'une grosseur qui va d'un point à peine perceptible à l'œil nu à celle d'une tête d'épingle de verre ; ces nodules, d'une couleur jaune grisâtre, sont les follicules tuberculeux. D'autre part, la rate, si elle est profondément atteinte, peut présenter des infarctus blancs, triangulaires.

Nous avons parfois quelques adénites sur le mésentère. Les reins sont, en général, rose grisâtre, sans lésions déterminées. Les surrénales ont un aspect normal.

Situs thoracique. — Le délai étant trop court, les organes thoraciques ne présentent habituellement aucune lésion ; assez rarement, on note quelques petits follicules à la surface des poumons.

Nos animaux étant sacrifiés au gaz d'éclairage, nous avons parfois des zones d'atélectase aux bases pulmonaires.

Examen microscopique. — D'une manière générale, nous pouvons dire que les lésions tuberculeuses que nous trouvons dans les divers organes sont du type folliculaire, c'est-à-dire que nous avons affaire à une tuberculose au stade productif. Dans ces lésions, nous pouvons mettre en évidence, par la méthode décrite plus haut, des bacilles acido-alcoolo-résistants parfois rares mais toujours présents.

Quelquefois, nous avons trouvé des lésions au stade exsudatif, mais dans ce cas, même en présence de bacilles acido-alcoolo-résistants, nous ne saurions dire s'il s'agissait effectivement de lésions tuberculeuses vraies.

Les follicules tuberculeux que nous trouvons ordinairement sont formés de nodules épithéloïdes au centre composé de polynucléaires ; les cellules plasmodiales du type Langhans y sont assez rares. Les bacilles acido-alcoolo-résistants, assez abondants à la limite séparant les cellules épithéloïdes des polynucléaires, sont assez rares ailleurs et l'on n'en trouve pour ainsi dire jamais dans la couronne lymphatique entourant le nodule.

Ces follicules se situent surtout et avant tout dans les ganglions et la rate, parfois dans le foie ou les poumons. Les reins présentent, dans la règle, une atteinte chronique de type banal, genre néphrite interstitielle, mais, sur 200 coupes de reins que nous avons faites, nous n'avons jamais trouvé de tuberculose au stade productif. En dehors des formations folliculaires, la rate peut présenter parfois une image

de splénite chronique diffuse et nous avons quelquefois de légers dépôts amyloïdes dans le foie.

Pour des raisons matérielles, il ne nous a pas été possible d'étudier d'autres organes d'une façon systématique, fait que nous déplorons particulièrement en ce qui concerne la surrénale. De même, il ne nous est pas possible de dire, à la suite de nos propres recherches, quelles sont les modifications sanguines qu'entraîne, chez le cobaye, une tuberculose généralisée.

Examen des cas douteux (cobayes apparemment négatifs, lettre b). — A notre très vif regret, il ne nous est pas possible de définir exactement ce que l'on entend par « cas douteux ». Il n'existe, en effet, aucun critère permettant, d'une manière schématique, de savoir si un cobaye, dont l'examen de routine ne décèle pas de tuberculose, est susceptible de présenter des micro-lésions. Pour ce choix, nous tenons compte de la présence d'une splénomégalie, d'un ganglion quelque peu hypertrophié... Comme on le voit, seule l'expérience permet de trier les cas d'un certain intérêt.

Durant le temps où nous nous sommes occupé des inoculations et des examens suivants, il nous a passé entre les mains environ 3000 cobayes ; sur ces 3000, nous avons prélevé les organes d'environ 180 animaux. Sur ces 180 examens histologiques, nous en éliminons 78, dont nous n'avions pas fait personnellement l'autopsie.

Sur les 102 qui nous restent, nous en enlevons 10 qui, à l'examen de routine, ont présenté des lésions tuberculeuses diagnosticables. Nous appellerons ces animaux *les témoins*.

Il nous en reste donc 92 ; sur ce nombre, nous avons trouvé 9 animaux qui ont présenté à l'examen histologique des lésions tuberculeuses folliculaires et où il nous a été possible de mettre en évidence des bacilles acido-alcoolo-résistants ; il s'agissait donc bien de lésions tuberculeuses.

D'autre part, il s'est trouvé 11 cas qui n'ont pas présenté de tuberculose évolutive au stade productif mais des lésions du type inflammatoire banal ; il a été cependant possible d'y trouver des bacilles acido-alcoolo-résistants. Il s'agissait, peut-être, de lésions tuberculeuses au stade exsudatif. Cependant, ne voulant pas interpréter ces cas « douteux », nous ne les comptons pas dans notre statistique.

Les autres animaux ont en général présenté des lésions banales, bien souvent dues à « *Pasteurella pseudo-tuberculosis* », parfois même dans quelques cas, les animaux n'avaient aucune lésion sur les coupes examinées.

En résumé, nous avons donc 9 cas sur 92 qui avaient été déclarés négatifs à l'examen habituel et où l'histologie a permis de mettre en évidence des lésions tuberculeuses. Donc, le matériel inoculé devait nécessairement renfermer, dans ces cas, des bacilles de Koch pathogènes.

Nous allons maintenant décrire rapidement ces 9 cas.

1. ANIMAL INOCULÉ AVEC DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN ET SACRIFIÉ DANS LES DÉLAIS NORMAUX (16 septembre 1954, 3 novembre 1954)

Examen macroscopique. — Au point d'inoculation, on notait la présence d'une adénite de la grosseur d'un pois chiche ; cette adénite ne présentait pas de nécrose à la coupe.

A l'ouverture de l'abdomen, on remarquait une légère splénomégalie, la surface de l'organe était normale, il n'y avait pas d'hépatomégalie ; les reins et les surrénales étaient d'aspect normal. L'ouverture de la cage thoracique a montré quelques zones d'atélectase aux bases pulmonaires.

Examen bactériologique. — Il n'a pu être fait étant donné l'absence de matériel pour un frottis.

Examen histologique. — Les coupes de ganglion ont montré la présence de nodules épithéloïdes avec, parfois, des polynucléaires au centre. La coloration de Ziehl a permis de trouver d'assez nombreux bacilles acido-alcoolo-résistants.

Dans la rate, on a trouvé une légère hyperplasie réticulaire mais aucune lésion spécifique.

Les reins et les poumons ont donné des images d'organes intacts.

2. ANIMAL INOCULÉ AVEC UNE EXPECTORATION ET SACRIFIÉ DANS LES DÉLAIS NORMAUX (22 octobre 1954, 10 novembre 1954)

Examen macroscopique. — Au point d'inoculation, nous avons trouvé une adénite de la grosseur d'un pois vert, non nécrosée.

Le situs abdominal nous a montré une légère splénomégalie ; les reins étaient de coloration un peu grisâtre. Le foie et les surrénales étaient normaux.

Les organes thoraciques n'avaient aucune lésion.

Examen bactériologique. — Un frottis, fait avec le produit de raclage du tissu ganglionnaire, n'a pas montré de bacilles acido-alcoolo-résistants.

Examen histologique. — Le ganglion présentait une image d'adénite purulente aiguë et quelques granulomes épithéloïdes.

Dans la rate, nous avons trouvé quelques petits nodules épithéloïdes au centre formé de polynucléaires. Une coloration au Ziehl nous a permis de découvrir quelques bacilles acido-alcoolo-résistants. Les autres organes n'avaient aucune lésion.

3. ANIMAL INOCULÉ AVEC UNE EXPECTORATION ET MORT SPONTANÉMENT APRÈS SIX SEMAINES ET DEMIE (8 juin 1954, 25 juillet 1954)

Examen macroscopique. — Nous n'avions pas de lésions lymphatiques au point d'inoculation mais un abcès sans rapport avec les ganglions de la région.

La rate était assez fortement hypertrophiée et à sa surface on notait quelques petits points jaunâtres.

Les bases pulmonaires présentaient des zones grises, striées de rouge sur la coupe.

Les autres organes n'avaient aucune lésion.

Examen bactériologique. — Le frottis fait avec le pus de l'abcès de la région inguinale droite n'a pas montré la présence de bacilles acido-alcoolo-résistants.

Examen histologique. — Dans la rate, nous avons trouvé quelques petits nodules épithéloïdes dont le centre était formé de polynucléaires. Ces lésions renfermaient d'assez nombreux bacilles acido-alcoolo-résistants.

Dans le poumon, aux bases, nous avons remarqué des lésions d'alvéolite exsudative ; ces organes avaient en outre de nombreux nodules lymphatiques péribronchiques.

4. ANIMAL SACRIFIÉ DANS LES DÉLAIS NORMAUX ET INOCULÉ AVEC DU PUS D'ADÉNITE CERVICALE PROBABLEMENT TUBERCULEUSE (30 septembre, 17 novembre 1954)

Examen macroscopique. — Une adénite inguinale droite, de la grosseur d'un pois vert, ne présentait pas de zones nécrotiques ou purulentes.

L'ouverture de l'abdomen nous montrait une rate très légèrement hypertrophiée, les autres organes étaient d'aspect absolument normal. Quelques zones d'atélectase aux bases étaient les seules lésions des organes thoraciques.

Examen bactériologique. — Nous n'avons pas trouvé de bacilles acido-alcoolo-résistants sur un frottis fait avec le suc de raclage du tissu ganglionnaire.

Examen histologique. — Le ganglion présentait, à la coupe, de gros nodules épithéloïdes dont le centre était formé de polynucléaires ; dans ces nodules, nous avons trouvé d'assez rares bacilles acido-alcoolo-résistants. La rate n'avait qu'une hyperplasie réticulaire diffuse mais aucune lésion spécifique ; les bacilles acido-alcoolo-résistants y étaient présents mais assez rares.

5. ANIMAL INOCULÉ AVEC DES URINES VÉSICALES ET SACRIFIÉ DANS LES DÉLAIS NORMAUX (5 octobre, 24 novembre 1954)

Examen macroscopique. — Au point d'inoculation, il n'y avait ni adénite ni abcès.

Dans l'abdomen, seule la rate était légèrement hypertrophiée, on notait à sa surface quelques points très petits, presque invisibles à l'œil nu, jaunâtres.

Les autres organes étaient parfaitement normaux.

Examen bactériologique. — Cet examen était impossible étant donné l'absence totale de matériel pour faire un frottis.

Examen histologique. — Il y avait dans la rate quelques follicules tuberculoïdes au centre formé de polynucléaires ; à la périphérie de cet amas de polynucléaires se trouvaient quelques cellules géantes du type de Langhans et d'assez nombreux bacilles acido-alcoolo-résistants.

6. ANIMAL INOCULÉ AVEC DES URINES VÉSICALES ET SACRIFIÉ DANS LES DÉLAIS NORMAUX (14 octobre, 24 novembre 1954)

Examen macroscopique. — Nous n'avons trouvé aucune lésion au point d'inoculation. La rate était hypertrophiée mais sa coloration et sa surface étaient d'aspect normal.

Sur la coupe, le foie présentait des points de la grosseur d'une tête d'épingle, translucides.

Les organes thoraciques étaient normaux.

Examen bactériologique. — Etant donné le défaut de matériel, il n'a pas été possible de faire un frottis.

Examen histologique. — Dans une rate présentant l'image d'une hyperplasie du tissu réticulaire, nous avons trouvé quelques petits nodules épithéloïdes au centre formé de polynucléaires ; dans ces nodules, il y avait d'assez rares bacilles acido-alcoolo-résistants.

Certains lobules hépatiques étaient presque complètement effacés et nous observions, à leur place, une substance hyaline distribuée en gros cordons irréguliers.

7. ANIMAL INOCULÉ AVEC DES URINES VÉSICALES ET MORT SPONTANÉMENT TROIS JOURS AVANT LE DÉLAI NORMAL (3 juillet, 22 août 1954)

Examen macroscopique. — Une splénomégalie assez importante et des plages d'hépatisation grise sur les poumons étaient les seules lésions visibles chez cet animal.

Examen bactériologique. — Il n'a pas été fait de frottis par absence de matériel.

Examen histologique. — Il y avait, dans la rate, des follicules tuberculoïdes, avec au centre des polynucléaires ; les cellules épithéloïdes étaient réparties sur une couche extrêmement mince, de deux assises de cellules au plus. Nous avons pu isoler des bacilles de Koch mais ils étaient très rares et nous nous sommes vu dans l'obligation de faire de coupes sériées.

8. ANIMAL INOCULÉ AVEC UNE EXPECTORATION ET SACRIFIÉ DANS LES DÉLAIS NORMAUX (25 mai, 14 juillet 1954)

Examen macroscopique. — Une adénite inguinale droite de la grosseur d'un pois, non nécrosée, était la seule lésion que présentait cet animal.

Examen bactériologique. — Nous n'avons pas vu de bacilles acido-alcoolo-résistants sur le frottis fait avec le suc de raclage du ganglion.

Examen histologique. — Nous avons trouvé quelques nodules épithéloïdes ganglionnaires dans lesquels des bacilles acido-alcoolo-résistants ont pu être mis en évidence.

La rate présentait une image de splénite chronique diffuse. Dans les poumons, nous avons remarqué quelques nodules lymphocytaires, péribronchiques, mais nous n'avons pas pu y trouver de bacilles acido-alcoolo-résistants.

Nous voyons donc que le nombre des cas où l'histologie a révélé des lésions tuberculeuses, alors que la technique de routine n'avait pas permis de poser un diagnostic, représente *environ* 10 % des cas où l'examen histologique a été pratiqué. Si nous reportions ce chiffre aux 2000 autopsies que nous avons faites, nous arriverions à un taux de 0,5 % de cas positifs à l'examen histologique. Cette valeur est très faible et elle doit, probablement, être fausse ; en effet, il doit exister des cas qui, en l'absence de critères précis pour effectuer le prélèvement, nous ont échappé. D'autre part, sur ces 2000 animaux, certains sont morts avant les délais normaux et, à deux exceptions près, nous les avons volontairement laissés de côté : en effet, un cobaye positif à l'examen histologique, disons après un mois, mais négatif à l'examen habituel, pourrait, peut-être, présenter des lésions directement diagnosticables après sept ou huit semaines.

Nous pouvons donc dire, en résumé, qu'il existe effectivement un pourcentage de cas où l'examen de routine n'a pas permis de mettre en évidence, dans le matériel soumis à l'examen, des bacilles tuberculeux mais où, cependant, un examen plus approfondi (histologique) a permis d'en découvrir. Ce pourcentage paraît assez faible, il est vrai, mais, comme nous l'avons dit au début, il présente tout de même une certaine importance.

CONSÉQUENCES PRATIQUES

A l'encontre de ce que certains croient peut-être, la recherche du bacille de Koch par inoculation au cobaye n'a donc pas de valeur absolue dans ses résultats négatifs ; cependant, comme bien souvent

le temps manque pour faire plusieurs inoculations successives, il est du devoir d'un laboratoire de s'entourer du plus grand nombre possible de précautions pour pouvoir donner, tout de même, une assez forte probabilité de résultats exacts. Car si, en dehors de la relativité que nous venons d'étudier et qui est inhérente à la méthode elle-même, s'ajoutent des erreurs dues à des fautes de technique ou à la négligence, nous pouvons dire que le résultat négatif a bien peu de valeur.

Précautions à prendre pour l'inoculation

Il doit être inoculé dans l'organisme le plus grand nombre possible de bacilles ; comme nous l'avons vu, une inoculation de 40 à 50 bacilles est absolument insuffisante pour que l'animal fasse une tuberculose facilement diagnosticable après les délais normaux. Or, que faisons-nous ordinairement ? On inocule un, éventuellement deux centimètres cubes de matériel et, dans ce matériel, une centrifugation n'a pas permis de trouver de bacilles ; si cette dernière technique a été correcte, nous pouvons donc dire, sans évidemment citer de chiffres, que les bacilles doivent y être très peu nombreux. Si, *a fortiori,* nous avons affaire à une expectoration nummulaire, bien liée, et que nous tentons de l'inoculer sans aucun traitement préalable et pour peu que le piston de seringue « fuie », il est très probable que nous inoculerons uniquement le liquide salivaire qui baigne cette expectoration. Deux mois plus tard, le laboratoire répondra que le matériel inoculé ne contenait pas de bacilles de Koch et le médecin sera peut-être tenté de considérer son malade comme non bacillaire.

Il faudrait donc, en pratique, inoculer la plus grande quantité possible de matériel, mais nous nous trouvons là limités par la possibilité qu'a le cobaye de recevoir un liquide étranger sous la peau. En effet, si nous lui injectons 7 à 10 centimètres cubes, il y aura un décollement et un délabrement des tissus sous-cutanés et la conséquence en sera un phlegmon qui entraînera la mort de l'animal durant la première semaine. Si nous avons affaire à du matériel épais, il serait bon d'émulsionner mécaniquement ce matériel, un traitement chimique risquant, en effet, de diminuer la vitalité des bacilles, comme l'ont montré *Hauduroy* et *Rosset.* Pour notre part, nous avons remarqué que l'emploi d'un trembleur électrique fournissant une fréquence de 20 à 30 cycles/seconde permet une émulsion suffisante en quelques minutes.

Soins à donner aux animaux

Certains auteurs insistent sur le fait qu'il ne faut pas faire cohabiter des cobayes ; à notre avis, la chose n'a pas une très grande importance, étant donné que les animaux ne font pas, dès le début, une tuberculose ouverte. Ils seront très probablement bacillaires durant les derniers jours, mais leurs voisins de cage, inoculés à la même époque, n'auront pas le temps de faire une tuberculose spontanée. Ce

qu'il faut éviter principalement, dans un élevage, ce sont les maladies intercurrentes : polysérosite à Diplocoques, pseudo-tuberculose à *Pasteurella,* entérite, qui prennent parfois l'aspect de véritables fléaux. Une propreté rigoureuse, une nourriture variée, moyennement abondante mais *fréquemment* distribuée, permettront de limiter les dégâts.

Les autopsies

Les autopsies doivent être faites avec le plus grand soin, quel que soit le temps que demande cette opération. Il serait souhaitable qu'elles soient effectuées en petits nombres, le cas échéant en plusieurs séances par semaine car, la fatigue aidant, il est tout à fait normal que lorsque l'on a autopsié 20 ou 30 cobayes, les derniers ne soient pas examinés avec toute l'attention désirable.

CONCLUSIONS

Malgré toutes les précautions techniques qu'il est possible de prendre, il existe, après le délai habituellement utilisé, un certain nombre de cobayes qui, bien qu'inoculés avec du matériel renfermant des bacilles de Koch, ne présentent pas, à l'*examen habituel,* des lésions tuberculeuses diagnosticables. *Urech* et *Hofstetter* l'avaient déjà soupçonné en se basant uniquement sur la clinique et en ce qui concerne le bacille bovin. Dans les cas que nous avons personnellement étudiés, c'est l'examen histologique qui nous a permis de poser un diagnostic certain.

Est-ce à dire que ce dernier mode d'investigation doit être utilisé toutes les fois que nous nous trouvons dans l'impossibilité de diagnostiquer une lésion chez l'animal ?

La chose certes est faisable, à la condition d'avoir à sa disposition un laboratoire spécialement équipé et surtout un personnel accoutumé à cette technique.

Ces conditions n'étant pas toujours réalisables, existe-t-il d'autres méthodes ?

Oui. Une méthode purement bactériologique qui consisterait à réinoculer les organes malades à un nouvel animal et une autre, de dépistage, qui serait une réaction à la tuberculine faite trois ou quatre jours avant de sacrifier les animaux ; cette méthode exigeant, dans les cas où l'examen de routine serait négatif, un examen histologique ultérieur pour assurer son diagnostic.

Pour notre part, nous croyons que, même en prolongeant beaucoup le délai habituel, les lésions ne seraient guère plus facilement diagnosticables après trois ou quatre mois.

En résumé, nous pouvons dire que, devant un résultat négatif, le praticien qui a demandé, dans un produit quelconque, la recherche du bacille tuberculeux, ne doit pas en déduire que ce matériel n'en contient *obligatoirement pas.*

Si, par contre, le cobaye a donné une réponse positive, on peut dire que ce résultat est valable dès le premier examen.

D'autre part, il serait souhaitable que le laboratoire ne réponde pas : « Ce matériel ne contenait pas de bacilles tuberculeux » lorsqu'il n'a pas trouvé de bacilles acido-alcoolo-résistants sur un frottis fait avec le pus ou le caséum provenant de l'animal inoculé mais, par exemple : « Nous n'avons pas trouvé de lésions tuberculeuses », ceci dans le dessein de bien marquer la relativité du résultat.

BOQUET A. — Sur le mécanisme de l'infection tuberculeuse expérimentale. *Ann. Inst. Pasteur*, 1931, 46, et 1932, 50.

BOQUET A. et BRETEY J. — Développement et évolution de la sensibilité à la tuberculine chez le cobaye. *Ann. Inst. Pasteur*, mars 1934, 411.

BOQUET A. et VALTIS J. — Sur l'infection pauci-bacillaire du cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, janvier 1931.

BURNET E. — Sur la virulence des bacilles tuberculeux. *Ann. Inst. Pasteur*, mai 1915.

HAUDUROY P. et ROSSET W. — Quelques précisions sur les réactions du cobaye sain et tuberculeux à la tuberculine. *Rev. Suisse de la Tub.*, 1944, vol. 1, fasc. 3.

HAUDUROY P., BOUVIER et ROSSET W. — Nouvelles techniques de découverte des bacilles tuberculeux dans les produits pathologiques. *C. R. Soc. Biol.*, avril 1945.

NINNI C. — Inoculation de produits suspects de tuberculose dans les ganglions lymphatiques. *Ann. Inst. Pasteur*, mai 1915.

PARAFF J. — *La tuberculose du cobaye.* Masson, éditeur, Paris.

SANCTIS MONALDI T. de — Variation du nombre des lymphocytes monocytes dans l'infection expérimentale du cobaye par des bacilles tuberculeux. *Ann. Inst. Pasteur*, janvier 1930.

SAENZ A. et COSTIL L. — Diagnostic bactériologique de la tuberculose. *Monographie de l'Inst. Pasteur.*

REMLINGER. — Elevage du cobaye et du lapin dans les laboratoires. *Bull. Inst. Pasteur*, février 1924.

VILLEMIN. — Cause et nature de la tuberculose (2e mémoire). *Bull. Acad. de Méd.*, 1866.

URECH E. et HOFSTETTER J. — Le bactériologue ne peut déterminer le rôle du bacille bovin dans la tuberculose humaine. *Journal Suisse de Méd.*, 1953, No 42.